动 物 学 研 究 2004, Feb. 25 (1): 63~67 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

# 枕纹锦蛇消化道5-羟色胺免疫活性内分泌细胞的分布与形态学观察

李淑兰*，陈 霞，赵文阁
（哈尔滨师范大学 生命与环境科学学院 生物系，黑龙江 哈尔滨 150080）

**摘要**：采用ABC免疫组织化学法，应用5-羟色胺（5-HT）特异性抗血清，对枕纹锦蛇（*Elaphe dione*）消化道内含有的5-HT内分泌细胞进行了免疫组织化学的定位研究和形态学观察。结果显示，5-HT细胞在消化道各部位的分布密度呈倒“V”形，以十二指肠最高，胃贲门部最低。其形态多样，上段（食管、胃）多为圆形和椭圆形，主要分布于上皮基部和腺泡上皮之间；中段（十二指肠、空肠、回肠）以细长锥体形、梭形、圆形为主，主要分布于上皮基部和上皮细胞之间；下段（直肠）为圆形，分布于上皮基部。锥体形细胞常有一个长突起伸入到固有膜或肠腔，行使内或外分泌功能；梭形细胞有两个细长突起，一个指向固有膜，另一个指向肠腔，表明这种细胞可能具有内、外分泌的双重功能。

**关键词**：枕纹锦蛇；消化道；5-HT免疫活性细胞
**中图分类号**：Q959.6 **文献标识码**：A **文章编号**：0254-5853(2004)01-0063-05

# Distribution and Morphological Observation of 5-HT Positive Immunoreactive Endocrine Cells in Digestive Tract of *Elaphe dione*

LI Shu-lan, CHEN Xia, ZHAO Wen-ge
(*Department of Biology, College of Life and Environment Science, Harbin Normal University, Harbin* 150080, *China*)

**Abstract**: The presence investigation and morphology observation of 5-HT endocrine cells have been carried out with the anti-5-HT serum by the method of the ABC immunhistochemical technique in the digestive tract of *Elaphe dione*. The results indicate that the distributive density of 5-HT cells is maximum in the duodenum and minimum in the cardiac part of stomach, and the density curve of 5-HT cells in gastrointestinal tract appears reverse “V”. The shape of 5-HT endocrine cells is diverse. The cells in superior segment (esophagus, and stomach) are round or ellipse, and disperse the bottom of epithelial or between gland epithelial cells mainly; those in middle segment (duodenum, jejunum, and ileum) are tapering, shuttle and round, and disperse the bottom of epithelial or between epithelial cells mainly; those in inferior segment (rectum) are round and disperse the bottom of epithelial cells. The tapering cells always have one long processus extending to either the gut lumen or lamina propria, and perform exocrine or endocrine function; the shuttle cells have two long processuses, one extending to gut lumen, the other extending to lamin propria, and perform both exocrine and endocrine functions.

**Key words**: *Elaphe dione*; Digestive tract; 5-HT positive immunoreactive cell

目前，对人类和哺乳类动物消化道内分泌细胞已经进行了广泛详细的研究，发现了多种类型的内分泌细胞，它们对调节消化系统功能发挥着重大的作用（Gu，1985）。消化道五羟色胺免疫活性细胞（5-Hydroxytryptamine immunoreactive cell，5-HTIR cell）属内分泌细胞类，其分泌的五羟色胺（5-Hy-

收稿日期：2003-07-21；接受日期：2003-11-18
基金项目：哈尔滨师范大学自然科学基金资助项目；蔡火石生物科学发展基金资助项目
*通讯作者，E-mail：shulanli2002@yahoo.com.cn

droxytryptamine，5-HT）具有十分重要的生理功能，如与动物的摄食、胃肠分泌和运动都有关系（Ormsbee & Fondacaro，1985）。随着免疫细胞化学技术的不断完善，已有学者用5-HT抗血清对不同脊椎动物消化道5-HT细胞进行了精确定位，发现其在不同动物的消化道中分布类型的变化较大（Tang & Zheng，1991）。爬行动物在脊椎动物进化过程中居于承上启下的位置，对其消化道内分泌细胞进行研究，无疑具有重要的比较内分泌学意义（Zhang et al，2001a）。

枕纹锦蛇（*Elaphe dione*）属爬行纲（Reptile）蛇目（Serpentiformes）游蛇科（Colubridae），分布范围较广。作者拟通过对其消化道5-HT免疫活性内分泌细胞的分布与形态的研究，进一步丰富比较内分泌学资料，同时为进一步研究5-HT对蛇的消化道功能的影响提供形态学基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材 料

枕纹锦蛇6条，长80～90 cm，采自黑龙江省绥芬河。断头处死，迅速按食管、胃贲门部、胃体、胃幽门部、十二指肠、空肠、回肠和直肠消化道各段取材。生理盐水洗净，用改良的Bouin's液固定24 h，常规脱水透明，石蜡包埋，以5～7 μm切片，贴片。

### 1.2 主要试剂

5-HT抗血清（兔抗人）和VECTASTAIN ABC免疫组织化学试剂盒，购于北京中山生物技术有限公司，美国ZYMED公司生产，产品代号为ZA－0231。

### 1.3 免疫组织化学方法

本实验采用ABC（avidin-biotin-peroxidase complex）免疫组织化学法。常规石蜡切片脱蜡复水。滴加正常山羊血清（3∶200），室温孵育20 min，封闭非特异性反应部位。倾去血清，滴加一抗（5-HT抗血清，稀释倍数1∶100），室温过夜。PBS浸洗3×5 min，滴加二抗（羊抗兔IgG抗血清，稀释倍数1∶200），室温孵育45 min。PBS浸洗3×5 min，滴加ABC试剂（稀释倍数1∶1∶100），室温孵育40 min。PBS浸洗3×5 min，DAB-$H_2O_2$显色，冷蒸馏水、PBS冲洗，自来水洗净。苏木精复染，常规脱水透明，封固。对照实验采用正常血清和PBS代替一抗，其余步骤同上。在Olympus BH-2型显微镜下观察和拍照，并对每个部位的切片随机取10个400倍（物镜40×、目镜10×）视野计数，取平均值±标准差，表示5-HT细胞的分布密度。

## 2 结 果

用ABC免疫组织化学法，显示的5-HT免疫活性内分泌细胞呈黑褐色，背景为淡蓝色，反差强，很易辨认。对照实验呈阴性反应。枕纹锦蛇消化道5-HT细胞的分布密度、位置和形态如表1所示。它们在消化道各部位的分布密度呈倒“V”形，以十二指肠的分布密度最高，胃贲门部最低。细胞形态多样，有圆形、椭圆形，主要分布于上皮基部和腺泡上皮之间；还有梭形，主要位于肠上皮细胞之间，细胞两端有较长的突起，分别指向肠腔和固有膜；还有的呈锥体形，仅一端具有较长突起，其突起指向肠腔或固有膜。

表1 枕纹锦蛇消化道5-HT细胞的分布密度、位置和形态

Table 1 Distributive density, location and shape of 5-HT cells in the digestive tract of *Elaphe dione*

| | 分布密度 Distributive density ($\bar{X} \pm SD$) | 分布位置 Location | 形态（图序） Shape (Fig. order) |
|---|---|---|---|
| 食管 Eesophagus | 2.4±0.29 | 上皮基部 | 多数呈椭圆形（图1） |
| 胃贲门部 Cardiac part of stomach | 1.1±0.94 | 上皮基部 | 圆形（图2） |
| 胃体 Body of stomach | 2.5 ±1.43 | 腺泡上皮之间 | 圆形（图3） |
| 胃幽门部 Pylorica part of stomach | 4.2±1.17 | 腺泡上皮之间 | 圆形或椭圆形，三五成群（图4～5） |
| 十二指肠 Duodenum | 12.5±1.96 | 肠上皮之间 | 梭形、细长锥体形，突起指向肠腔或固有膜（图6～8） |
| 空肠 Jejunum | 5.6±0.83 | 肠上皮之间 | 细长锥体形，突起指向肠腔（图9） |
| 回肠 Ileum | 3.5±1.36 | 肠上皮之间或基部 | 圆形或锥体形（10－11） |
| 直肠 Rectum | 2.0±0.77 | 肠上皮基部 | 圆形（图12） |




图 1～12　枕纹锦蛇消化道 5-HT 细胞的分布位置和形态

Figs. 1－12　Distributive location and shape of 5-HT cells in the digestive tract of *Elaphe dione*

1．食管上皮基部的 5-HT 细胞（箭头）（A 5-HT cell in the bottom of epithelia of esophagus, indicated by arrow）×400

2．胃贲门部上皮基部呈圆形的 5-HT 细胞（箭头）（A round 5-HT cell in the bottom of epithelia of cardiac part of stomach, indicated by arrow）×400

3．胃体腺泡上皮之间呈圆形的 5-HT 细胞（箭头）（A round 5-HT cell in gastric gland of body of stomach, indicated by arrow）

×400
4. 胃幽门部腺泡上皮之间呈圆形的 5-HT 细胞（箭头）（A round 5-HT cell between epithelial cells of gastric gland at pyloric part of stomach, indicated by arrow） ×400
5. 胃幽门部腺泡上皮之间的三五成群的 5-HT 细胞（箭头）（Three or five 5-HT cells grouped between epithelial cells of gastric gland at pyloric part of stomach, indicated by arrow） ×400
6. 十二指肠上皮细胞之间呈长梭形的两个 5-HT 细胞（箭头）（Two shuttled-shape 5-HT cells between epithelial cells of duodenum, indicated by arrow） ×400
7. 十二指肠上皮细胞之间呈长梭形突起指向肠腔和固有膜的 5-HT 细胞（箭头）（A shuttled-shape 5-HT cell between epithelial cells of duodenum, having two processuses, one extending to the gut lumen and the other to lamina propria, indicated by arrow） ×400
8. 十二指肠上皮细胞之间呈锥体形突起指向固有膜的 5-HT 细胞（箭头）（A shuttled-shape 5-HT cell between epithelial cells of duodenum, its processus extending to the lamina propria, indicated by arrow） ×400
9. 空肠上皮细胞之间呈细长锥体形突起指向肠腔的 5-HT 细胞（箭头）（A tapering 5-HT cell between epithelial cells of jejunum, its processus extending to the gut lumen, indicated by arrow） ×400
10. 回肠上皮基部呈圆形的 5-HT 细胞（箭头）（Round 5-HT cells in the bottom of epithelia of ileum, indicated by arrows） ×400
11. 回肠上皮细胞之间呈长锥体形突起指向肠腔的 5-HT 细胞（箭头）（A tapering 5-HT cell between epithelial cells of ileum, its processus extending to the gut lumen, indicated by arrows） ×400
12. 直肠上皮基部呈圆形的 5-HT 细胞（箭头）（A round 5-HT cell in the bottom of epithelia of rectum, indicated by arrow） ×400

## 3 讨 论

5-HT 能刺激胃肠粘液分泌、平滑肌收缩和血管扩张，对消化功能有很强的调节作用（El-Salhy et al, 1985）。枕纹锦蛇消化道各段均有 5-HT 细胞分布，但其分布型与以往研究结果不尽一致。

鸟和哺乳类动物食管中无 5-HT 细胞分布，而两栖和爬行动物中均有分布（Tang & Zheng, 1991; El-Salhy et al, 1985）。本文中，在枕纹锦蛇的食管上皮基部也有 5-HT 细胞分布，这与 Zhang et al (2001b) 报道的有毒的眼镜蛇（*Naja naja*）和无毒的乌梢蛇（*Zaocys dhumnades*）食道中分布有 5-HT 细胞的结果是一致的。枕纹锦蛇以缠绕手段使动物窒息而死。由于暴吞、暴食，在食物进入食道以后，它们需要较多的 5-HT 因子使食物顺利下行；因此，其食管中的 5-HT 细胞密度较高。枕纹锦蛇胃肠道 5-HT 细胞分布密度呈倒“V”形：十二指肠部 5-HT 细胞分布密度最大，两边的部位近似对称性递减。这种分布类型在鸟类和兽类中很少见到，如小白鼠消化道 5-HT 细胞分布密度以胃幽门最高，小肠最低（Tang & Zheng, 1991）；北京鸭消化道 5-HT 细胞分布密度以盲肠最高，而肌胃则没有分布（Deng et al, 1994）。枕纹锦蛇消化道 5-HT 细胞的这种分布型与眼镜蛇的相似，后者的 5-HT 细胞从胃体到直肠的分布型也呈倒“V”形（Zhang et al, 2001b）。但前者为无毒蛇，后者为有毒蛇，说明有无毒性对消化道内分泌细胞的分布型并无影响。这与 Zhang et al (2001b) 对有毒的眼镜蛇和无毒的乌梢蛇肠道 5-HT 的分布型相同所得的结论一致。

枕纹锦蛇与黄喉水龟（*Mabuya quinquetaeaiata*）、扬子鳄（*Alligator sinensis*）虽然同属于爬行纲，但消化道 5-HT 细胞的分布型却不相同。黄喉水龟的大肠 5-HT 阳性细胞密度最大（Tang & Zheng, 1991）；扬子鳄的十二指肠密度最高，但直肠部的密度比空肠和回肠都高（Wu et al, 1999）。Yang et al (1995) 研究了大熊猫消化道 5-HT 细胞的分布，发现较为特殊，认为这可能是其长期进化过程中对特殊食性适应的结果。之后，Yang & Wang (1997) 又证明了改变大鼠食物组成可使 5-HT 细胞的分布型发生变化。黄喉水龟、扬子鳄和枕纹锦蛇的食性不同，提示它们消化道 5-HT 细胞的分布型可能与其食性有关。另外，枕纹锦蛇是陆栖爬行类，而黄喉水龟与扬子鳄是水栖或半水栖的，它们的生活环境也不相同（Chen, 1991）。所以，枕纹锦蛇 5-HT 细胞的分布型的形成与其食性、食物组成、生活环境都可能有关。至于消化道 5-HT 细胞分布型产生的机制还有待于进一步研究。

生理学实验证明，哺乳动物胃肠壁分泌的 5-HT 可直接释放入血或肠腔（Zheng et al, 1990），电镜亦观察到 5-HT 分泌物是通过弥散方式进入固有膜层的（Josephson, 1973）。Huang et al (1987) 还报道，大鼠胃肠道内的 5-HT 免疫活性细胞可通过细胞突起深入到固有层或肠腔面，行使内或外分泌功能。本研究中我们观察到，呈锥体形的 5-HT 免疫活性细胞有一个长突起伸入到固有层或肠腔面，释放 5-HT，提示这种细胞行使内或外分泌功能；还观察到，呈梭形的 5-HT 免疫活性细胞有两个突起，一个突起伸入到固有层，另一个突起伸入

到肠腔面，表明这种细胞可能同时具有内和外分泌双重功能。至于外分泌的意义还有待于进一步研究。

**参考文献：**


Chen BH. 1991. The Amphibian and Reptilian Fauna of Anhui [M]. Hefei: Anhui Science and Technology Press. 237 - 263. [陈壁辉. 1991. 安徽两栖爬行动物志. 合肥：安徽科学技术出版社. 237 - 263.]

Deng ZP, Zhou ZX, Yamada J. 1994. Immunohistochemical studies on the endocrine cells in the digestive tract of Beijing duck [J]. *Acta Zool. Sin.*, **40** (4): 383 - 389. [邓泽沛，周占祥，山田纯三. 1994. 北京鸭消化道内分泌细胞的免疫组织化学研究. 动物学报，**40** (4): 383 - 389.]

El-Salhy M, Wilander E, Lunquist N. 1985. Comparative studies of serotonin like immunoreactive cells in the digestive tract of vertebrates [J]. *Biomedical Research*, **6** (6): 371 - 375.

Josephson RL. 1973. Distributing of diazo-positive (argentallin) cells in small intestine of rats of various ages [J]. *Am. J. Anat.*, **136**: 15 - 22.

Gu J. 1985. Denomination, Classification and embryogenesis of endocrine cells in the digestive tract [A]. In: Wang ZJ. Gut Hormone [M]. Beijing: Science Press. 15 - 26. [顾 江. 1985. 消化道内分泌细胞的命名、分类和胚胎发生. 见：王志均. 胃肠激素. 北京：科学出版社. 15 - 26.]

Huang WQ, Huang ZM, Wang WC. 1987. An observation of the distribution and morphology of 5-HT immunoreactive endocrine cells in the gastrointestinal tract of rats [J]. *Acta Anatomica Sinica*, **18** (4): 422 - 426. [黄威权，黄宗明，王文超. 1987. 大鼠胃肠5－羟色胺免疫活性内分泌细胞的分布及形态学观察. 解剖学报，**18** (4): 422 - 426.]

Ormsbee HS, Fondacaro JD. 1985. Action of serotonin on the gastrointestinal tract [J]. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **178**: 333 - 338.

Tang XW, Zheng YS. 1991. Distribution of 5-Hydroxytryptamine immunostaining cells in digestive tracts of different kind vertebrates [J]. *Zool. Res.*, **12** (3): 293 - 298. [唐晓雯，郑一守. 1991. 不同脊椎动物消化道内5－羟色胺免疫染色细胞的分布. 动物学研究，**12** (3): 293 - 298.]

Wu XB, Zhang SZ, Chen BH, Deng ZP, Zhou ZX, Wang CL, Nie JS, Xie WS. 1999. Immunohistochemical studies on endocrine cells in the digestive tract of *Alligator sinensis* [J]. *Acta Zool. Sin.*, **45** (2): 155 - 161. [吴孝兵，张盛周，陈壁辉，邓泽沛，周占祥，王朝林，聂继山，谢万树. 1999. 扬子鳄消化道内分泌细胞的免疫组织化学研究. 动物学报，**45** (2): 155 - 161.]

Yang GB, Wang P. 1997. Effects of food composition on enterochromaffin cells in the gut mucaso of rat [J]. *Acta Zool. Sin.*, **43** (1): 55 - 60. [杨贵波，王 平. 1997. 改变食物组成对大鼠胃肠道嗜铬细胞的影响. 动物学报，**43** (1): 55 - 60.]

Yang GB, Chen MS, Zheng ZP, Wang P. 1995. The distribution of endocrine cells in the gut mucosa of the giant panda [J]. *Acta Theriol. Sin.*, **15** (1): 4 - 10. [杨贵波，陈茂生，邓泽沛，王 平. 1995. 大熊猫胃肠道内分泌细胞分布型的研究. 兽类学报，**15** (1): 4 - 10.]

Zhang ZQ, Zhang SZ, Wu XB. 2001a. Immunohistochemical localization of the endocrine cells in the digestive tract of *Trimeresurus stejnegeri* [J]. *Acta Zool. Sin.*, **47** (6): 666 - 671. [张志强，张盛周，吴孝兵. 2001a. 竹叶青蛇消化道内分泌细胞的免疫组织化学定位. 动物学报，**47** (6): 666 - 671.]

Zhang ZQ, Zhang SZ, Wu XB. 2001b. Immunohistochemical localization and comparison on 5-HT cells in the digestive tract of snakes [J]. *Chinese Journal of Zoology*, **36** (6): 11 - 14. [张志强，张盛周，吴孝兵. 2001b. 两种蛇消化道5－羟色胺细胞的免疫组织化学定位及比较. 动物学杂志，**36** (6): 11 - 14.]

Zheng YS, Tang XW, Zhu HW. 1990. Distribution of 5-hydroxytryptamine immunostaining cells in various tissues of *Bufo bufo gargarizans* [J]. *Acta Biologiae Experimentalis Sinica*, **23** (3): 285 - 290. [郑一守，唐晓雯，朱洪文. 1990. 中华大蟾蜍多种组织内5－羟色胺免疫染色细胞的分布. 实验生物学报，**23** (3): 285 - 290.]